

PCT/JP 99/07269

24.12.99

日 本 国 特 許 庁

PATENT OFFICE  
JAPANESE GOVERNMENT

09/868780

REC'D 18 FEB 2000

WIPO PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日  
Date of Application:

1998年12月25日

出 願 番 号  
Application Number:

平成10年特許願第370277号

出 願 人  
Applicant (s):

財団法人微生物化学研究会  
明治製菓株式会社

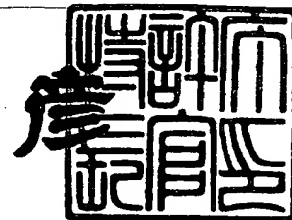
**PRIORITY  
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2000年 2月 4日

特 許 庁 長 官  
Commissioner,  
Patent Office

近 藤 隆 彦



出証番号 出証特2000-3002642

【書類名】 特許願

【整理番号】 10823

【提出日】 平成10年12月25日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 C07D

【発明の名称】 グリコシダーゼ阻害活性を有するシアスタチンB誘導体  
およびそれらの製造法

【請求項の数】 6

【発明者】

【住所又は居所】 東京都狛江市岩戸南3丁目18番21号

【氏名】 西村 吉男

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県横浜市鶴見区馬場2丁目32番15号 マイン  
ドハウス203

【氏名】 設楽 永紀

【発明者】

【住所又は居所】 東京都品川区東五反田5丁目1番11号 ニューフジマ  
ンション701

【氏名】 竹内 富雄

【特許出願人】

【識別番号】 000173913

【氏名又は名称】 財団法人微生物化学研究会

【代表者】 梅澤 純夫

【特許出願人】

【識別番号】 000006091

【氏名又は名称】 明治製菓株式会社

【代表者】 北里 一郎

【代理人】

【識別番号】 100066452

【弁理士】

【氏名又は名称】 八木田 茂

【選任した代理人】

【識別番号】 100064388

【弁理士】

【氏名又は名称】 浜野 孝雄

【選任した代理人】

【識別番号】 100067965

【弁理士】

【氏名又は名称】 森田 哲二

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 008796

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9102652

【包括委任状番号】 9006034

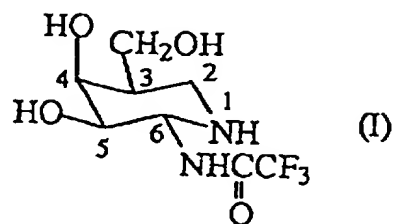
【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 グリコシダーゼ阻害活性を有するシアスタチンB誘導体およびそれらの製造法

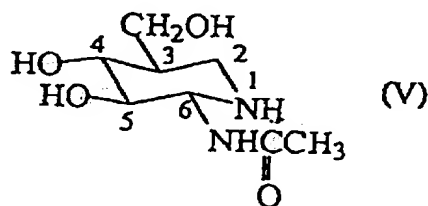
【特許請求の範囲】

【請求項1】 式(I)



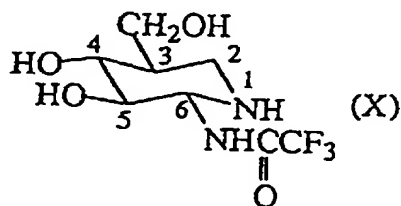
で表される6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチンBまたはその製薬学的に許容できる塩。

【請求項2】 式(V)



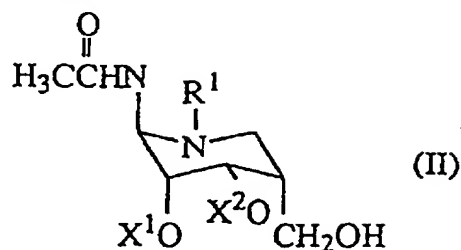
で表される3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチルシアスタチンBまたはその製薬学的に許容できる塩。

【請求項3】 式(X)

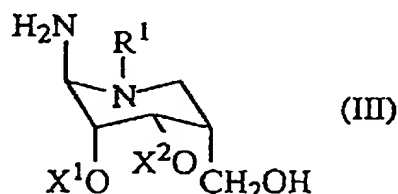


で表される6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチンBおよびその製薬学的に許容できる塩。

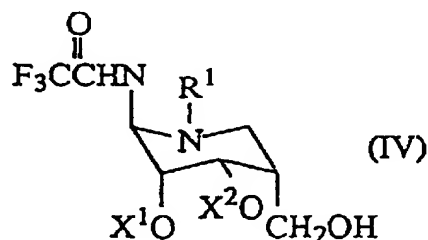
【請求項 4】 次の一般式 (II)



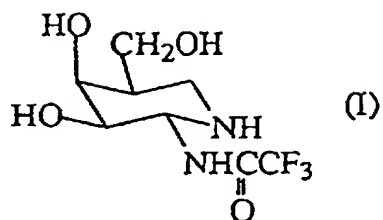
(式中、 $R^1$  は水素原子またはイミノ保護基であり、 $X^1$  と  $X^2$  はそれぞれに 1 価のヒドロキシル保護基であるか、あるいは  $X^1$  と  $X^2$  は両者が共同して 2 価のヒドロキシル保護基 1 個を示す) で表される N-保護または非保護-4, 5-O-保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチン B から N-アセチル基を脱離して次の一般式 (III)



(式中、 $R^1$ 、 $X^1$  および  $X^2$  は前記と同じ意味をもつ) で表される N-保護または非保護-4, 5-O-保護-3-ヒドロキシメチル-デ-N-アセチル-3-デカルボキシシアスタチン B を生成し、次いで式 (III) の化合物の遊離のアミノ基をトリフロロアセチル化し、これにより次の一般式 (IV)

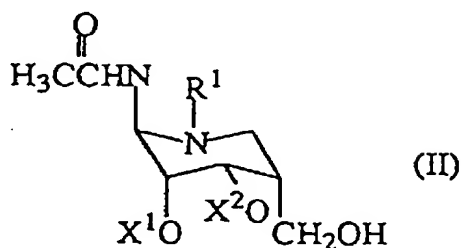


(式中、 $R^1$ 、 $X^1$  および  $X^2$  は前記と同じ意味をもつ) で表される N-保護または非保護-4, 5-O-保護-6-デアセタミド-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチン B を生成し、次いで式 (IV) の化合物からイミノ保護基 ( $R^1$ ) があれば、これを脱離し、且つヒドロキシル保護基 ( $X^1$ 、 $X^2$ ) を脱離することを特徴とする、次式 (I)

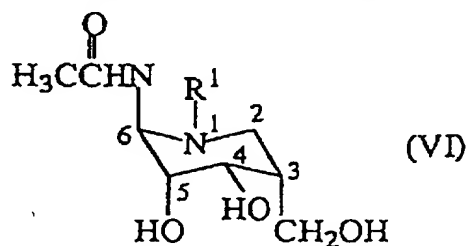


で表される 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチン B の製造法。

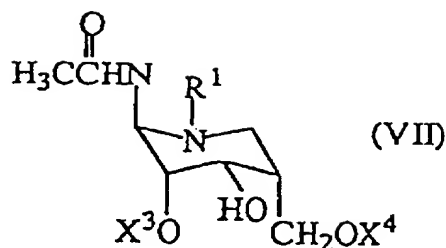
【請求項 5】 次の一般式 (II)



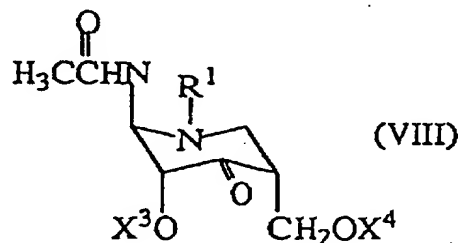
(式中、 $R^1$  は水素原子またはイミノ保護基であり、 $X^1$  と  $X^2$  はそれぞれに 1 価のヒドロキシル保護基であるか、あるいは  $X^1$  と  $X^2$  は両者が共同して 2 価のヒドロキシル保護基 1 個を示す) で表される N-保護または非保護-4, 5-O-保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチン B からヒドロキシル保護基 ( $X^1$  と  $X^2$ ) を脱離して、次の一般式 (VI)



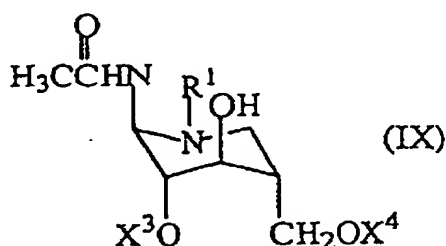
(式中、 $R^1$  は前記と同じ意味をもつ) で表される N-保護または非保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチン B を生成し、次いで式 (VI) の化合物の 3 位ヒドロキシメチル基と 5 位の遊離の水酸基を保護して、次の一般式 (VII)



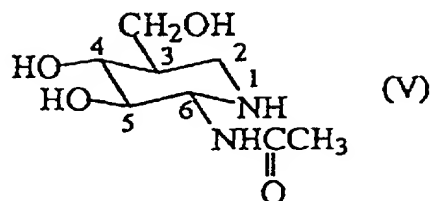
(式中、 $R^1$  は水素原子またはイミノ保護基であり、 $X^3$  と  $X^4$  はそれぞれヒドロキシル保護基を示す) で表されるN-保護または非保護-5-O-保護-3-保護ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式 (VII) の化合物の4位水酸基を酸化して、次の一般式 (VIII)



(式中、 $R^1$ 、 $X^3$  および  $X^4$  は前記と同じ意味をもつ) で表されるN-保護または非保護-4-ケト-5-O-保護-3-保護ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式 (VIII) の化合物の4位ケト基を還元して、次の一般式 (IX)

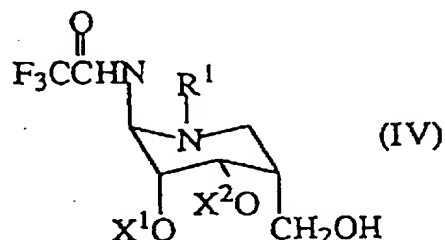


(式中、 $R^1$ 、 $X^3$  および  $X^4$  は前記と同じ意味をもつ) で表されるN-保護または非保護-4-エピ-5-O-保護-3-保護ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式 (IX) の化合物からイミノ保護基 ( $R^1$ ) があれば、これを脱離し、且つヒドロキシル保護基 ( $X^3$ 、 $X^4$ ) を脱離することを特徴とする、次式 (V)

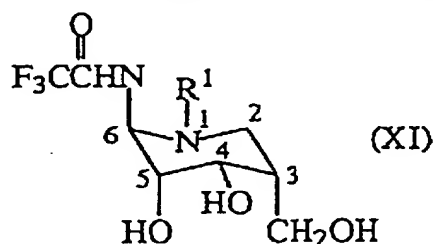


で表される 3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチルシアスタチン B の製造法。

【請求項 6】 次の一般式 (IV)

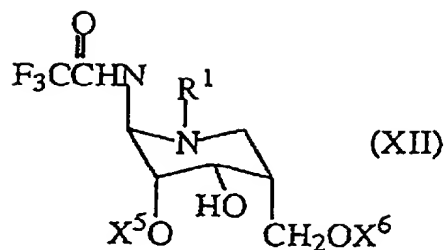


(式中、 $R^1$  は水素原子またはイミノ保護基であり、 $X^1$  と  $X^2$  はそれぞれ 1 個のヒドロキシル保護基であるか、あるいは  $X^1$  と  $X^2$  は両者が共同して 2 個のヒドロキシル保護基 1 個を示す) で表される N-保護または非保護-4, 5-O-保護-6-デアセタミド-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチン B を生成し、次いで式 (IV) の化合物からヒドロキシル保護基 ( $X^1$  と  $X^2$ ) を脱離して、次の一般式 (XI)

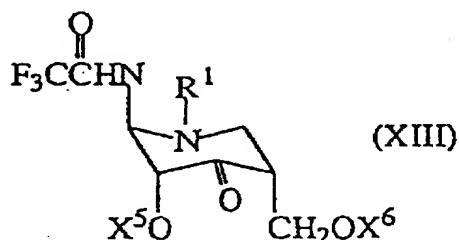


(式中、 $R^1$  は前記と同じ意味をもつ) で表される N-保護または非保護-6-デアセタミド-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチン B を生成し、次いで式 (XI) の化合物の 3 位ヒドロキシメチル基と 5 位の遊離の水酸基を保護して、次の一般式 (XII)

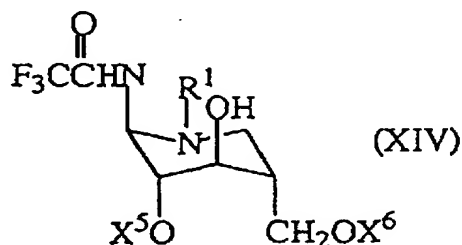




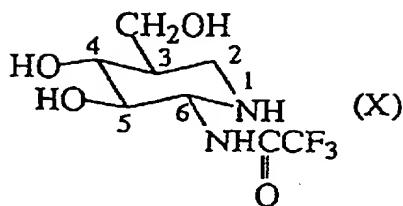
(式中、 $R^1$  は水素原子またはイミノ保護基であり、 $X^5$  と  $X^6$  はそれぞれヒドロキシル保護基を示す) で表される N-保護または非保護-5-O-保護-6-デアセタミド-3-保護ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチン B を生成し、次いで式 (XII) の化合物の 4 位水酸基を酸化して、次の一般式 (XIII)



(式中、 $R^1$ 、 $X^5$  および  $X^6$  は前記と同じ意味をもつ) で表される N-保護または非保護-5-O-保護-4-ケト-6-デアセタミド-3-保護ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチン B を生成し、次いで式 (XIII) の化合物の 4 位ケト基を還元して、次の一般式 (XIV)



(式中、 $R^1$ 、 $X^5$  および  $X^6$  は前記と同じ意味をもつ) で表される N-保護または非保護-5-O-保護-4-エピ-6-デアセタミド-3-保護ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチン B を生成し、次いで (XIV) の化合物からイミノ保護基 ( $R^1$ ) があればこれを脱離し、且つヒドロキシル保護基 ( $X^5$ 、 $X^6$ ) を脱離することを特徴とする、次式 (X)



で表される 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチン B の製造法。

#### 【発明の詳細な説明】

【0001】

#### 【発明の属する技術分野】

本発明はグリコシダーゼに対する阻害活性を有する新規シアスタチン B 誘導体およびその製薬学的に許容される塩に関し、詳しくは 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチン B およびその 4-エピ体、ならびに 3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチルシアスタチン B あるいはそれらの製薬学的に許容される塩に関する。また本発明はそれら新規シアスタチン B 誘導体の製造法に関する。

【0002】

#### 【従来の技術】

種々なグリコシダーゼは動物細胞、微生物やウイルスなどに幅広く分布する酵素である。哺乳動物ではグリコシダーゼは糖質代謝を通して、細胞の癌化、癌細胞の転移や、ウイルス感染、細菌感染や免疫機能、ならびに卵子の受精などを含めて、糖蛋白や糖脂質糖鎖が関与する多種多様な生理機序を支配していると考えられている。また、ある種のグリコシダーゼは、デンプンやシュウクロースなどの多糖やオリゴ糖の分解を通して食物の消化機構に関与している。さらに、細胞膜上に結合している糖鎖を切断するグリコシダーゼに対する阻害物質は、免疫調節作用および癌細胞の転移を抑制する作用、ならびにエイズウイルスやインフルエンザウイルスの感染を抑制する作用を有する可能性があることが認められている。また、食物の消化機構に関与する異化作用を有するグリコシダーゼに対する阻害物質は、抗糖尿病薬、抗肥満薬として有用であると重要視されている。

# 【0003】

このようにグリコシダーゼは生体で重要な酵素であるから、グリコシダーゼの生理学的性質の研究も重要である。グリコシダーゼの性質を研究する上には、グリコシダーゼの酵素活性を阻害する作用を有する物質が利用できる。また、ある種のグリコシダーゼ阻害物質は癌細胞の転移の抑制剤として利用できると期待できる。

従って、毒性が低く且つ水溶性でしかもグリコシダーゼ阻害活性が強い新しい化合物を提供することが強く要望されている。

# 【0004】

## 【発明が解決しようとする課題】

本発明の目的は、グリコシダーゼに強い阻害活性を示す新規なシアスタチンB誘導体を提供することであり、またそのような化合物の製造方法を提供することにある。

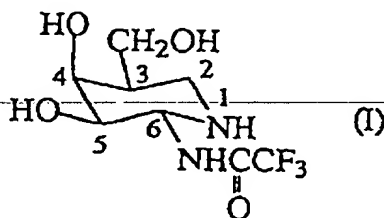
# 【0005】

## 【課題を解決するための手段】

本発明者らは、グリコシダーゼ阻害物質としてのシアスタチンB誘導体に注目して鋭意研究を行った。その結果、強力なグリコシダーゼ阻害活性を有し、且つ後記の式(I)、(V)および(X)でそれぞれ示される3種の新規シアスタチンB誘導体を合成することに成功した。また、式(I)、(V)および(X)のシアスタチンB誘導体を効率よく合成できる新規な製造方法を見出した。これらの知見に基づいて、本発明を完成した。

# 【0006】

従って、第一の本発明では、式(I)

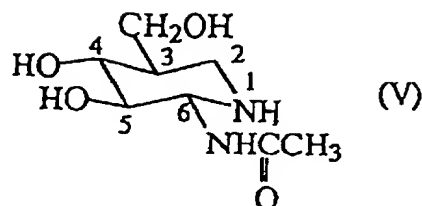


で表される6-デアセタミド-3-デカルボキシー-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチンBまたはその製薬学的に許容できる塩が提供

される。

【0007】

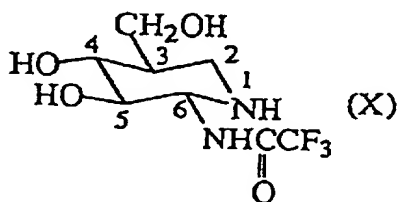
第二の本発明では、式 (V)



で表される 3-デカルボキシ-4-エピー-3-ヒドロキシメチルシアスタチン B またはその製薬学的に許容できる塩が提供される。

【0008】

第三の本発明では、式 (X)



で表される 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-エピー-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチン B またはその製薬学的に許容できる塩が提供される。

【0009】

第一、第二および第三の本発明による式 (I)、式 (V) および式 (X) をそれぞれ有する化合物の塩には、これらの式の化合物のイミノ基における酸付加塩が包含される。このような酸付加塩には、特に製薬学的に許容できる鉱酸、例えば塩酸、硫酸、あるいは有機酸、例えば酢酸、プロピオン酸等との製薬学的に許容できる酸付加塩がある。

【0010】

次に、第一、第二および第三の本発明による式 (I) の 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチン B と式 (V) の 3-デカルボキシ-4-エピー-3-ヒドロキシメチルシアスタチン B と式 (X) の 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-エピー-3-ヒド

ロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチンBの各々の塩酸塩の理化学的性状を示す。

## 【0011】

(1) 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチンB〔式(I)の化合物〕

色および形状：無色無定形固体

分子式： $C_8H_{13}N_2O_4F_3 \cdot HCl$

比旋光度： $[\alpha]_D^{27} +38.8^\circ$  (c 0.64、メタノール)

$^1H$ -NMRスペクトル( $CD_3OD$ ,  $\delta$  ppm): 2.06~2.15 (1 H, m, 5-H), 3.18 (1 H, br t,  $J=12.0$  Hz, 6-Hax), 3.22 (1 H, dd,  $J=12.3$ , 5.4 Hz, 6-Heq), 3.58 (1 H, dd,  $J=10.7$ , 7.3 Hz,  $-CH_2OH$ ), 3.69 (1 H, dd,  $J=10.7$ , 6.4 Hz,  $-CH_2OH$ ), 3.90 (1 H, dd,  $J=10.3$ , 2.9 Hz, 3-H), 4.08~4.12 (1 H, m, 4-H), 5.07 (1 H, d,  $J=10.3$  Hz, 2-H).

IRスペクトル(KBr): 3300, 2890, 1720, 1550, 1430, 1220,  $1180cm^{-1}$

マスペクトル(FAB-MS):  $m/z$  259.2 ( $M+H$ )<sup>+</sup>, 185.2, 146.2, 93.1, 75.1, 57.1

## 【0012】

(2) 3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチルシアスタチンB〔式(V)の化合物〕

色および形状：無色無定形固体

分子式： $C_8H_{16}N_2O_4 \cdot HCl$

比旋光度： $[\alpha]_D^{26} +45.4^\circ$  (c 0.50、メタノール)

$^1H$ -NMRスペクトル( $CD_3OD$ ,  $\delta$  ppm): 1.83~1.97 (1 H, m, 5-H), 2.06 (1 H, s,  $-NHCOCH_3$ ), 3.04 (1 H, br t,  $J=12.7$  Hz, 6-Hax), 3.04 (1 H, br t,  $J=12.7$  Hz, 6-Hax), 3.36 (1 H, dd,  $J=13.2$ , 4.4 Hz, 6-Heq), 3.47 (1 H, dd,  $J=10.8$ , 8.8 Hz, 4-H), 3.60 (1 H, dd,  $J=10.3$ , 8.8 Hz, 3-H), 3.65 (1 H, dd,  $J=11.2$ , 6.8 Hz,  $-CH_2OH$ ), 3.83 (1 H, dd,  $J=11.2$ , 3.4 Hz,  $-CH_2OH$ ), 4.71

(1 H, d, J=10.3 Hz, 2-H)

I R スペクトル (KBr): 3350, 1680, 1550, 1380, 1290, 1100, 1060, 890  $\text{cm}^{-1}$

マススペクトル (FAB-MS):  $m/z$  205.2 ( $M+H$ )<sup>+</sup>, 154.1, 146.1, 136.1, 107, 89, 77

(3) 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチンB [式 (X) の化合物]

色および形状: 無色無定形固体

分子式:  $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_4\text{F}_3 \cdot \text{HCl}$

比旋光度:  $[\alpha]_D^{26} +35.0^\circ$  (c 0.50, メタノール)

$^1\text{H}$ -NMR スペクトル ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 40°C,  $\delta$  ppm): 1.88~2.00 (1 H, m, 5-H), 3.11 (1 H, br t, J=13.2 Hz, 6-H<sub>ax</sub>), 3.42 (1 H, dd, J=13.2, 4.4 Hz, 6-H<sub>eq</sub>), 3.51 (1 H, dd, J=10.3, 9.3 Hz, 4-H), 3.67 (1 H, dd, J=11.2, 6.4 Hz,  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ), 3.73 (1 H, dd, J=10.3, 8.8 Hz, 3-H), 3.84 (1 H, dd, J=11.2, 3.9 Hz,  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ), 4.84 (1 H, d, J=9.8 Hz, 2-H)

I R スペクトル (KBr): 3350, 1740, 1570, 1420, 1230, 1180, 1100, 1060, 990, 880  $\text{cm}^{-1}$

マススペクトル (FAB-MS):  $m/z$  259.1 ( $M+H$ )<sup>+</sup>, 202.2, 154.1, 146.1, 136.1, 128.1, 107, 77.1, 57.1

【0013】

本発明による式 (I) の 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチンB と式 (V) の 3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチルシアスタチンB と式 (X) の 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチンB がそれぞれにグリコシダーゼ阻害活性を有することを以下に試験例 1~5 により示す。

【0014】

試験例 1

本例は、本発明による式 (I)、式 (V) または式 (X) の化合物の N-アセチルガラクトサミニダーゼ阻害活性を測定する試験例である。

N-アセチルガラクトサミニダーゼ阻害活性の評価は「Journal of Biological Chemistry」第252巻、5194～5200頁(1977) に記載の方法の改良法で行った。

#### 【0015】

即ち、0.025 Mクエン酸-リン酸緩衝液 (pH4.0) 0.5mLと同緩衝液に溶解させた10mMパラニトロフェニル-N-アセチル- $\alpha$ -D-ガラクトサミニド0.1mLと本発明による式 (I)、(V) および (X) の化合物の何れか一つを検体として含む水溶液、あるいは水 0.1mLを96穴タイタープレート中、37℃で10分間プレーインキュベーションした。プレーインキュベーション終了後、供試のグリコシダーゼとして、同緩衝液に溶解させたニワトリ肝臓の $\alpha$ -N-アセチルガラクトサミニダーゼ (Sigma社製) 0.01mLを加えた後、37℃で30分間反応させた。

#### 【0016】

反応後、反応液に 0.3Mグリシン-水酸化ナトリウム緩衝液 (pH10.5) 1.0mLを加えて酵素反応を停止させた。その後に、その反応液の 405nmにおける吸光度 (a) を測定した。同時に検体を含まない対照試験での反応液の吸光度 (b) を測定し、またそれぞれに対する対照としての反応をしない盲検の吸光度 (a') および (b') を測定した。N-アセチルグルコサミニダーゼ阻害率は式  $[1 - (a - a') / (b - b')] \times 100$  により計算した。供試酵素の活性を50%阻害させる検体の濃度、すなわち、酵素の50%阻害率を示す検体の濃度を  $IC_{50}$  の値とした。 $IC_{50}$  値として得られた試験結果は後記の表1に要約して示す。

#### 【0017】

### 試験例 2

本例は、本発明による式 (I)、式 (V) または式 (X) の化合物の N-アセチルグルコサミニダーゼ阻害活性を測定する試験例である。

N-アセチルグルコサミニダーゼ阻害活性の評価は「Methods in Enzymology」第28巻、772頁 (1972) に記載の方法の改良法で行った。

即ち、供試のグリコシダーゼ酵素としてウシ精巢上体の $\beta$ -N-アセチルガラクトサミニダーゼ (Sigma社製) を用い、基質としてパラニトロフェニル-N-

アセチル- $\beta$ -D-グルコサミニドを用いて、上記N-アセチルガラクトサミニダーゼ阻害活性の試験と同様の方法で試験を行った。また、上記と同様の方法で吸光度を測定し、また $\beta$ -N-アセチルグルコサミニダーゼの50%阻害率を与える検体の $IC_{50}$ 値を計算した。その $IC_{50}$ 値を後記の表1に示す。

【0018】

### 試験例 3

本例は、本発明による式(I)、式(V)または(X)の化合物の $\alpha$ -ガラクトシダーゼおよび $\beta$ -ガラクトシダーゼ阻害活性を測定する試験例である。

$\alpha$ -ガラクトシダーゼおよび $\beta$ -ガラクトシダーゼ阻害活性の評価は「Journal of Biological Chemistry」第240巻、2468頁(1965)に記載の方法の改良法で行った。

即ち、グリコシダーゼ酵素としてアスペルギラス・ニゲル (*Aspergillus niger*) の $\alpha$ -ガラクトシダーゼおよび $\beta$ -ガラクトシダーゼ (Sigma社製) を用い、基質としてパラニトロフェニル- $\alpha$ -D-ガラクトシドおよびパラニトロフェニル- $\beta$ -D-ガラクトシドを用いて、試験例1の阻害活性試験と同様の方法で試験を行った。また、試験例1と同様の方法で吸光度を測定し、酵素の50%阻害率を与える検体の $IC_{50}$ 値を計算した。その $IC_{50}$ 値を表1に示す。

【0019】

### 試験例 4

本例は、本発明による式(I)、式(V)または式(X)の化合物の $\alpha$ -グルコシダーゼおよび $\beta$ -グルコシダーゼ阻害活性を測定する試験例である。

$\beta$ -グルコシダーゼ阻害活性の評価は「Agricultural and Biological Chemistry」第26巻、203頁(1962)に記載の方法の改良法で行った。

即ち、グリコシダーゼ酵素として酵母の $\alpha$ -グルコシダーゼおよびアーモンドの $\beta$ -グルコシダーゼ (Sigma社製) を用い、基質としてパラニトロフェニル- $\alpha$ -D-グルコシドおよびパラニトロフェニル- $\beta$ -D-グルコシドを用いて、試験例1の阻害活性試験と同様の方法で試験を行った。また、試験例1と同様の方法で吸光度を測定し、酵素の50%阻害率を与える検体の $IC_{50}$ 値を計算した。その $IC_{50}$ 値を表1に示す。



【0020】

試験例 5

本例は、本発明化合物の $\alpha$ -マンノシダーゼおよび $\beta$ -マンノシダーゼ阻害活性を測定する試験例である。

$\beta$ -マンノシダーゼ阻害活性の評価は「Journal of Biological Chemistry」第242巻、5474頁（1967）に記載の方法の改良法で行った。

即ち、グリコシダーゼ酵素としてジャック・ビーンのア-マンノシダーゼおよびカタツムリの $\beta$ -マンノシダーゼ（Sigma社製）を用い、緩衝液として、0.05 Mの酢酸ナトリウム-酢酸緩衝液（pH4.5）を用い、基質として、パラニトロフェニル- $\alpha$ -D-マンノシドおよびパラニトロフェニル- $\beta$ -D-マンノシドを用いて、試験例1の阻害活性試験と同様の方法で試験を行った。また、試験例1と同様の方法で吸光度を測定し、酵素の50%阻害率を与える検体の $IC_{50}$ 値を計算した。 $IC_{50}$ 値について得られた試験結果を次の表1に示す。

【0021】

[表1]

本発明化合物	50%阻害濃度 ( $IC_{50}$ ) ( $\mu g/ml$ )							
	酵素A <sup>a</sup>	酵素B <sup>b</sup>	酵素C <sup>c</sup>	酵素D <sup>d</sup>	酵素E <sup>e</sup>	酵素F <sup>f</sup>	酵素G <sup>g</sup>	酵素H <sup>h</sup>
式(I)	0.65	22	0.1	0.05	0.14	38	>100	>100
式(V)	>100	3	>100	>100	1.4	10	65	7
式(X)	>100	>100	>100	60	0.13	1	0.75	0.06

【0022】

(注)：a 酵素A： $\alpha$ -N-アセチルガラクトサミニダーゼ（ニワトリ肝臓）

b 酵素B： $\beta$ -N-アセチルグルコサミニダーゼ（ウシ精巣上体）

c 酵素C： $\alpha$ -D-ガラクトシダーゼ（アスペルギラス・ニゲル）

d 酵素D： $\beta$ -D-ガラクトシダーゼ（アスペルギラス・ニゲル）

e 酵素E： $\beta$ -D-グルコシダーゼ（アーモンド）

f 酵素F： $\beta$ -D-マンノシダーゼ（カタツムリ）

g 酵素G： $\alpha$ -D-マンノシダーゼ（ジャックビーン）

h 酵素H： $\alpha$ -D-グルコシダーゼ（酵母）

#### 【0023】

表1に示す通り、式（I）で示される第一の本発明の化合物は、N-アセチルグルコサミニダーゼ、N-アセチルガラクトサミニダーゼ、 $\alpha$ -D-ガラクトシダーゼ、 $\beta$ -D-ガラクトシダーゼ、 $\beta$ -D-グルコシダーゼおよび $\beta$ -D-マンノシダーゼを強く阻害する。また、式（V）で示される第二の本発明の化合物は、N-アセチルグルコサミニダーゼ、 $\beta$ -D-マンノシダーゼ、 $\beta$ -D-グルコシダーゼ、 $\alpha$ -D-マンノシダーゼおよび $\alpha$ -D-グルコシダーゼを強く阻害する。また式（X）で示される第三の本発明の化合物は、 $\beta$ -D-ガラクトシダーゼ、 $\beta$ -D-マンノシダーゼ、 $\beta$ -D-グルコシダーゼ、 $\alpha$ -D-マンノシダーゼおよび $\alpha$ -D-グルコシダーゼを強く阻害する。従って、これら本発明化合物は上記酵素の阻害剤として極めて有用である。

#### 【0024】

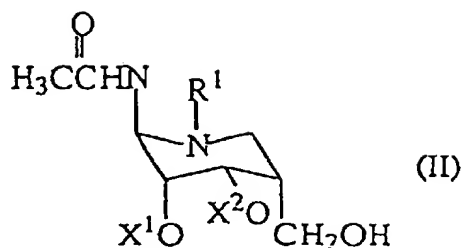
また、式（I）、（V）および（X）でそれぞれ示される本発明化合物は、哺乳動物における癌細胞の転移の機序、およびエイズウイルスの感染の機序に参与するグリコシダーゼ、さらに、食物の消化機構に参与する異化作用グリコシダーゼも阻害できる活性を有すると推定できるから、癌の治療に利用できる癌細胞の転移抑制剤として、およびエイズウイルスの感染阻害剤として、さらに、抗糖尿病薬、抗肥満薬として有用であると期待される。また、グリコシダーゼの生体内の働きを研究する試薬として有用である。

#### 【0025】

次に、式（I）で示される6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチンBの製造法を説明する。

#### 【0026】

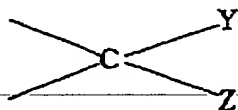
第一の本発明による式（I）の6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチンBを製造するには、最初の原料として次の一般式（II）



(式中、 $R^1$  は水素原子またはイミノ保護基であり、 $X^1$  と  $X^2$  はそれぞれに 1 価のヒドロキシル保護基であるか、あるいは  $X^1$  と  $X^2$  は両者が共同して 2 価のヒドロキシル保護基 1 個を示す) で表される N-保護または非保護-4, 5-ジオ-保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチン B を用いる。この式 (II) の化合物は放線菌ストレプトミセス・バーチシラス・バリエダス・クイントム (*Streptomyces verticillus* var. *quintum* (微工研菌寄第507号)) を培養して得られるシアスタチン B (特公昭55-46714号公報) から特開平9-157254号明細書に記載の方法によるか、あるいは「Carbohydrate Research」第286巻、173~178頁 (1996) に記載の佐藤らの方法によって製造される。

【0027】

上記の式 (II) の化合物におけるイミノ保護基 ( $R^1$ ) は、加水分解法で脱離できるアルコキシカルボニル基、アリールオキシカルボニル基またはアラルキルオキシカルボニル基であるのが好ましく、特にターシャリーブトキシカルボニル基であるのが便利である。イミノ保護基 ( $R^1$ ) の導入は常法で行うことができる。前記の式 (II) の化合物の 4 位及び 5 位のヒドロキシル基を同時に保護する 2 価のヒドロキシル保護基 ( $X^1$ 、 $X^2$ ) はベンジリデン基であるのが便利である。しかし一般的にはその他の各種の 2 価のヒドロキシル保護基を保護基  $X^1$ 、 $X^2$  として利用できる。すなわち、次式



〔但し Y 及び Z は、互いに同じ又は異なってもよく、それぞれが水素、アルキル基 (好ましくは炭素数 1~4 の低級アルキル基) 又はアリール基 (好ましくはフェニル基又は置換フェニル基、例えばパラメトキシフェニル基) である〕で表される 2 価のヒドロキシル保護基 (例えばイソプロピリデン基を包含) を利用で

きる。またベンジリデン基に代えて、イソプロピリデン基により、あるいはシクロアルキリデン基、例えばシクロヘキシリデン基またはテトラヒドロピラニリデン基により式 (II) の化合物の 4 位および 5 位のヒドロキシル基を同時に保護することもできる。

# 【0028】

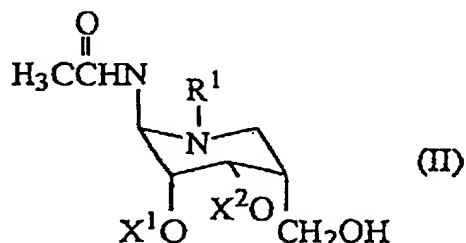
このような 2 価のヒドロキシル保護基の導入は、糖の化学において、隣接する 2 個の炭素原子に結合するヒドロキシル基の 2 個を同時に保護するためのヒドロキシ基保護の慣用技術に従って行われる。また別に、適当な 1 価のヒドロキシル保護基 ( $X^1$ 、 $X^2$ ) としてトリアルキルシリル基、特にターシャリーブチルジメチルシリル基を用いることができ、常法で導入できる。

# 【0029】

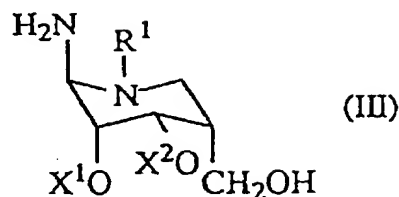
上記のように調製された式 (II) の化合物を出発化合物として用いて、これを複数の工程で化学的に変換することにより、式 (I) の 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチン B を製造できる。

# 【0030】

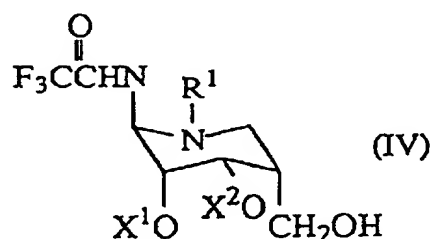
従って、第四の本発明においては、次の一般式 (II)



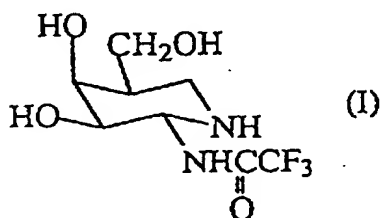
(式中、 $R^1$  は水素原子またはイミノ保護基であり、 $X^1$  と  $X^2$  はそれぞれに 1 価のヒドロキシル保護基であるか、あるいは  $X^1$  と  $X^2$  は両者が共同して 2 価のヒドロキシル保護基 1 個を示す) で表される N-保護または非保護-4,5-O-保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチン B から N-アセチル基を脱離して次の一般式 (III)



(式中、 $R^1$ 、 $X^1$  および  $X^2$  は前記と同じ意味をもつ) で表される N-保護または非保護-4, 5-O-保護-3-ヒドロキシメチル-6-N-アセチル-3-デカルボキシシアスタチン B を生成し、次いで式 (III) の化合物の遊離のアミノ基をトリフロロアセチル化し、これにより次の一般式 (IV)



(式中、 $R^1$ 、 $X^1$  および  $X^2$  は前記と同じ意味をもつ) で表される N-保護または非保護-4, 5-O-保護-6-デアセタミド-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチン B を生成し、次いで式 (IV) の化合物からイミノ保護基 ( $R^1$ ) があれば、これを脱離し、且つヒドロキシル保護基 ( $X^1$ 、 $X^2$ ) を脱離することを特徴とする、次式 (I)



で表される 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチン B の製造法が提供される。

【0031】

第四の本発明の方法を実施するには、先ず、式 (II) で表される N-保護または非保護-4, 5-O-保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチン B を、メタノールなどの溶媒に溶かすか、または無溶媒でヒドラジンを加えて室温でヒドラジン分解反応させる。これにより、式 (II) の化合物の N-ア

セチル基が脱離されて遊離のアミノ基が生じ、式 (III) で表される N-保護または非保護-4, 5-O-保護-6-N-デアセチル-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチン B を生成する。

## 【0032】

次いで式 (III) の化合物を N, N'-ジメチルホルムアミド等の溶媒中で N, N'-ジイソプロピルエチルアミン等の塩基の存在下にエチルトリフロロアセテートと反応させるか、塩化メチレン等の溶媒中で、ピリジン等の塩基の存在下に無水トリフロロ酢酸と反応させる。これにより式 (III) の化合物の遊離のアミノ基がトリフロロアセチル化され、式 (IV) で表される N-保護または非保護 4, 5-O-保護-6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチン B を生成する。さらに式 (IV) の化合物から常法で保護基 ( $R^1$ 、 $X^1$ 、 $X^2$ ) を脱離すると、目的の式 (I) で示される 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチン B が製造される。

## 【0033】

なお、式 (IV) の化合物から、イミノ保護基 ( $R^1$ ) ならびにヒドロキシル保護基 ( $X^1$ 、 $X^2$ ) を脱離するに当って、その場合の脱離反応は保護基の種類に応じて適当な方法、例えば加水分解法又は加水素分解法により常法で行い得る。例えば、イミノ保護基 ( $R^1$ ) がターシャリーブトキシカルボニル基 (Boc) である場合には、上記の式 (IV) の化合物を、1~4 N 塩酸-ジオキサンなどの、塩化水素ガスを含む有機溶媒に溶解し、その溶液を室温に 1~12 時間放置してイミノ基保護基 Boc を除去することができる。そしてヒドロキシル保護基 ( $X^1$ 、 $X^2$ ) がベンジリデン基である場合には、10% パラジウム炭素の存在下に水素雰囲気中で加水素分解にかけることにより除去することができる。

## 【0034】

次に、第二の本発明による式 (V) の 3-デカルボキシ-4-エピー-3-ヒドロキシメチルシアスタチン B の製造法を説明する。

## 【0035】

第二の本発明による式 (V) の 3-デカルボキシ-4-エピー-3-ヒドロキシ

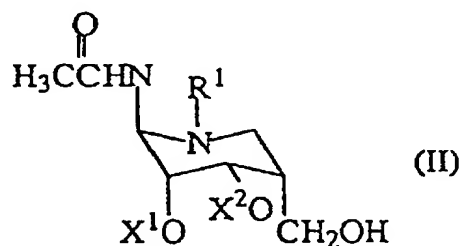
メチルシアスタチンBを製造するには、最初の原料として、前記の一般式(II)で表されるN-保護または非保護-4, 5-O-保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを第四の本発明方法と同様に用いる。

【0036】

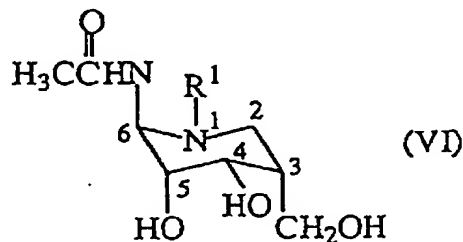
式(II)の化合物を出発化合物として用いて、これを複数の工程で化学的に変換することにより、式(V)の3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチルシアスタチンBが製造できる。

【0037】

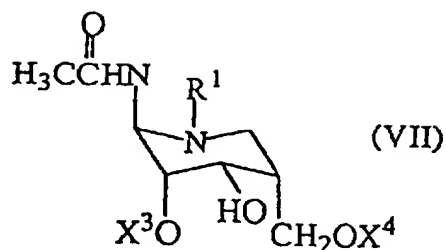
すなわち、第五の本発明においては、次式(II)



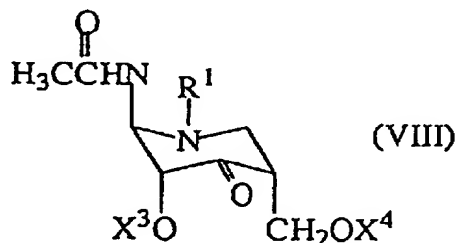
(式中、 $R^1$  は水素原子またはイミノ保護基であり、 $X^1$  と  $X^2$  はそれぞれに1価のヒドロキシル保護基であるか、あるいは  $X^1$  と  $X^2$  は両者が共同して2価のヒドロキシル保護基1個を示す) で表されるN-保護または非保護-4, 5, -O-保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBからヒドロキシル保護基 ( $X^1$  と  $X^2$ ) を脱離して、次の一般式(VI)



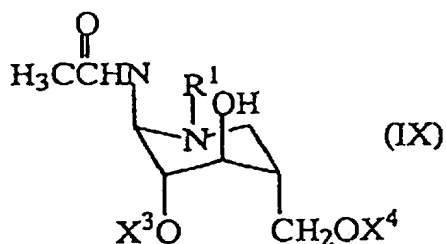
(式中、 $R^1$  は前記と同じ意味をもつ) で表されるN-保護または非保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式(VI)の化合物の3位ヒドロキシメチル基と5位の遊離の水酸基を保護して、次の一般式(VII)



(式中、 $R^1$  は水素原子またはイミノ保護基であり、 $X^3$  と  $X^4$  はそれぞれヒドロキシル保護基を示す) で表されるN-保護または非保護-5-O-保護-3-保護ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式(VII)の化合物の4位水酸基を酸化して、次の一般式(VIII)



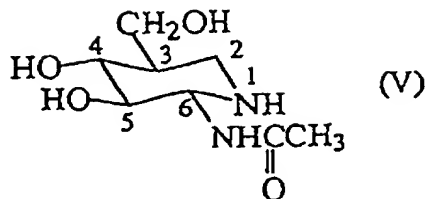
(式中、 $R^1$ 、 $X^3$  および  $X^4$  は前記と同じ意味をもつ) で表されるN-保護または非保護-4-ケト-5-O-保護-3-保護ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式(VIII)の化合物の4位ケト基を還元して、次の一般式(IX)



(式中、 $R^1$ 、 $X^3$  および  $X^4$  は前記と同じ意味をもつ) で表されるN-保護または非保護-4-エピー-5-O-保護-3-保護ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式(IX)の化合物からイミノ保護基

( $R^1$ )があれば、これを脱離し、且つヒドロキシル保護基( $X^3$ 、 $X^4$ )を脱離することを特徴とする、次式(V)





で表される 3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチルシアスタチン B の製造法が提供される。

【0038】

第五の本発明の方法を実施するには、先ず、式 (II) で表される N-保護または非保護-4, 5-O-保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチン B を、溶媒中で、酢酸や塩酸などの酸または水酸化ナトリウムや炭酸カリウムなどの塩基を作用させて加水分解反応や、あるいはパラジウムおよびラネーニッケル等の触媒下に加水素分解反応させる。これにより、式 (II) の化合物のヒドロキシル保護基 ( $X^1$  および  $X^2$ ) が脱離されて遊離のヒドロキシル基に転化され、式 (VI) で表される N-保護または非保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチン B を生成する。

【0039】

次いで式 (VI) の化合物を N, N'-ジメチルホルムアミド、塩化メチレン、クロロホルム、テトラヒドロフラン等の溶媒中で、イミダゾール、ジイソプロピルエチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン等の塩基の存在下にターシャリーブチル・ジメチルシリルクロリド、トリメチルシリルクロリド等のハロゲン化アルキルシランや、メトキシエトキシメチルクロリド、メトキシメチルクロリド等のハロゲン化アルコキシアルキルや、ハロゲン化アルキルや、ハロゲン化アラルキルや、アセチルクロリド等の酸塩化物等と反応させる。これにより、式 (VI) の化合物の 3 位ヒドロキシメチル基と 5 位の遊離の水酸基が保護され、次式 (VII) で表される、N-保護または非保護-5-O-保護-3-保護ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチン B を生成する。

【0040】

次いで式 (VII) の化合物の 4 位水酸基を塩化メチレン、四塩化炭素、テトラヒドロフラン等の溶媒中で、四酸化ルテニウム、ピリジニウムクロロクロメート、

ピリジニウムジクロメート、二酸化マンガン、デスーマーチン・バーヨーディナ  
ン等の酸化剤で酸化する。これにより一般式(VIII)で表されるN-保護または非  
保護-4-ケト-5-O-保護-3-保護ヒドロキシメチル-3-デカルボキシ  
シアスタチンBを生成する。次いで式(VIII)の化合物の4位ケト基を塩化メチ  
レン、アセトニトリル、テトラヒドロフラン等の溶媒中で、リチウムボロハイド  
ライド、ソデウムボロハイドライド、リチウムアルミニウムハイドライド等の金  
属ハイドライドとの反応や、パラジウム、ラネーニッケル等の触媒の存在下に水  
素添加して還元する。これにより、一般式(IX)で表されるN-保護または非保  
護-4-エピ-5-O-保護-3-保護ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシ  
アスタチンBを生成する。次いで式(IX)の化合物からイミノ保護基( $R^1$ )が  
あれば酸や塩基処理および加水素分解等の通常の方法でこれを脱離し、且つヒド  
ロキシル保護基( $X^3$ 、 $X^4$ )を酸や塩基処理および加水素分解等の通常の方法  
で脱離すると、目的の式(V)の3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシ  
メチルシアスタチンBが製造される。

## 【0041】

次に、第三の本発明による式(X)の6-デアセタミド-3-デカルボキシ-  
4-エピ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチンBの  
製造法を説明する。

## 【0042】

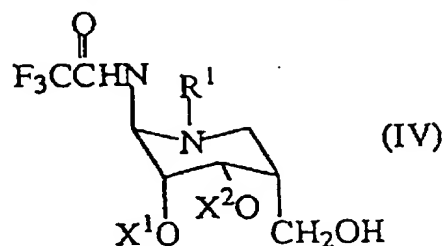
式(X)の6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシ  
メチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチンBを製造するには、第五の本発  
明方法で中間体として得られた一般式(IV)で表されるN-保護または非保護-  
4, 5-O-保護-6-デアセタミド-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロ  
アセタミド-3-デカルボキシシアスタチンBを最初の原料として用いる。

## 【0043】

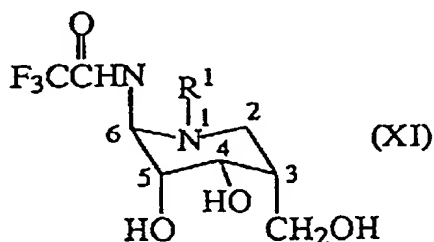
上記の式(IV)の化合物を出発化合物として、これを複数の工程で化学的に変  
換することにより、式(X)の6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-エピ  
-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチンBを製造でき  
る。

【0044】

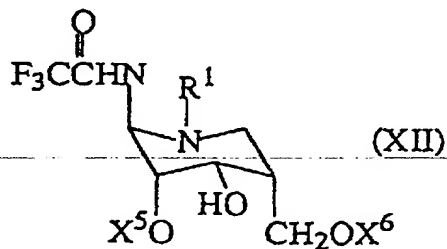
すなわち、第六の本発明においては、次の一般式 (IV)



(式中、 $R^1$  は水素原子またはイミノ保護基であり、 $X^1$  と  $X^2$  はそれぞれ1価のヒドロキシル保護基であるか、あるいは  $X^1$  と  $X^2$  は両者が共同して2価のヒドロキシル保護基1個を示す) で表されるN-保護または非保護-4, 5-O-保護-6-デアセタミド-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式 (IV) の化合物からヒドロキシル保護基 ( $X^1$  と  $X^2$ ) を脱離して、次の一般式 (XI)

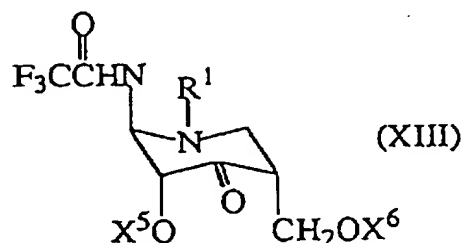


(式中、 $R^1$  は前記と同じ意味をもつ) で表わされるN-保護または非保護-6-デアセタミド-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式 (XI) の化合物の3位ヒドロキシメチル基と5位の遊離の水酸基を保護して、次の一般式 (XII)

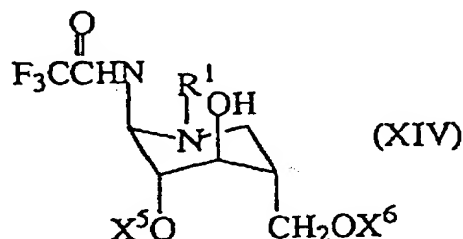


(式中、 $R^1$  は水素原子またはイミノ保護基であり、 $X^5$  と  $X^6$  はそれぞれヒドロキシル保護基を示す) で表わされるN-保護または非保護-5-O-保護-6-

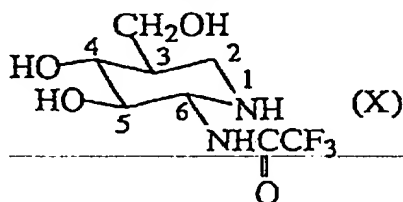
ーデアセタミドー3-保護ヒドロキシメチルー6-トリフロロアセタミドー3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式(XII)の化合物の4位水酸基を酸化して、次の一般式(XIII)



(式中、 $R^1$ 、 $X^5$  および  $X^6$  は前記と同じ意味をもつ) で表わされるN-保護または非保護ー5-〇ー保護ー4-ケトー6-デアセタミドー3-保護ヒドロキシメチルー6-トリフロロアセタミドー3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式(XIII)の化合物の4位ケト基を還元して、次の一般式(XIV)



(式中、 $R^1$ 、 $X^5$  および  $X^6$  は前記と同じ意味をもつ) で表わされるN-保護または非保護ー5-〇ー保護ー4-エピー6-デアセタミドー3-保護ヒドロキシメチルー6-トリフロロアセタミドー3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで(XIV)の化合物からイミノ保護基( $R^1$ )があればこれを脱離し、且つヒドロキシル保護基( $X^5$ 、 $X^6$ )を脱離することを特徴とする、次式(X)



で表される6-デアセタミドー3-デカルボキシー4-エピー3-ヒドロキシメチルー6-トリフロロアセタミドシアスタチンBの製造法が提供される。

## 【0045】

第六の本発明方法を実施するには、式 (IV) の N-保護または非保護-4, 5- $\text{O}$ -保護-6-デアセタミド-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチン B を溶媒中で、酢酸や塩酸等の酸または水酸化ナトリウムや炭酸カリウム等の塩基を作用させて加水分解反応や、またはパラジウムおよびラネーニッケル等の触媒下に加水素分解反応させる。これにより式 (IV) の化合物のヒドロキシル保護基 ( $\text{X}^1$  と  $\text{X}^2$ ) が脱離され、遊離のヒドロキシル基に転化され、一般式 (XI) で表される N-保護または非保護-6-デアセタミド-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチン B を生成する。

## 【0046】

式 (XI) の化合物を N, N'-ジメチルホルムアミド、塩化メチレン、クロロホルム、テトラヒドロフラン等の溶媒中で、イミダゾール、ジイソプロピルエチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン等の塩基の存在下にターシャリーブチル・ジメチルシリルクロリド、トリメチルシリルクロリド等のハロゲン化アルキルシランや、メトキシエトキシメチルクロリド、メトキシメチルクロリド等のハロゲン化アルコキシアルキルやハロゲン化アルキルや、ハロゲン化アラルキルやアセチルクロリド等の酸塩化物と反応させる。これにより、式 (XI) の化合物の 3 位ヒドロキシメチル基と 5 位の遊離の水酸基が保護され、一般式 (XII) で表される、N-保護または非保護-5- $\text{O}$ -保護-6-デアセタミド-3-保護ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチン B を生成する。

## 【0047】

次いで式 (XII) の化合物の 4 位水酸基を塩化メチレン、四塩化炭素、テトラヒドロフラン等の溶媒中で、四酸化ルテニウム、ピリジニウムクロロクロメート、ピリジニウムジクロメート、二酸化マンガ、デスーマーチン・パーヨーディナン等の酸化剤で酸化する。これにより一般式 (XIII) で表される N-保護または非保護-5- $\text{O}$ -保護-4-ケト-6-デアセタミド-3-保護ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチン B を生成する。

次いで式 (XIII) の化合物の 4 位ケト基を塩化メチレン、アセトニトリル、テトラヒドロフラン等の溶媒中、リチウムボロハイドライド、ソデウムボロハイドライド、リチウムアルミニウムハイドライド等の金属ハイドライドや、パラジウム、ラネーニッケル等の触媒の存在下に水素添加して還元する。これにより、一般式 (XIV) で表される N-保護または非保護-5-O-保護-4-エピ-6-デアセタミド-3-保護ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチン B を生成する。

## 【0048】

次いで (XIV) の化合物から、イミノ保護基 ( $R^1$ ) があれば酸や塩基処理または加水素分解等の通常の方法でこれを脱離し、且つヒドロキシル保護基 ( $X^5$ 、 $X^6$ ) を酸や塩基処理および加水素分解等の通常の方法で脱離すると、式 (X) で表される 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチン B が製造される。

## 【0049】

第四、第五および第六の本発明の方法でそれぞれに得られた式 (I)、(V) および (X) の化合物が塩酸塩などの酸付加塩の形で得られる場合には、その酸付加塩の水溶液を常法により陽イオン交換樹脂、例えばダウエックス 50W (米国ダウケミカル社製) ( $H^+$  型) で処理することにより、またはアンモニアを含有する溶媒系によるクロマトグラフィーで精製することにより、遊離塩基の形の式 (I)、(V) および (X) の化合物が得られる。

## 【0050】

## 【発明の実施の形態】

以下に、第四の本発明方法で用いる式 (II) の出発化合物の一例である N-(ターシャリーブトキシカルボニル)-4, 5-O-ベンジリデン-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチン B (化合物 Ia) の製造例を例示する。参考例 1 を示す。また、第一、第二および第三の本発明による式 (I)、(V) および (X) の化合物の製造を例示する実施例 1, 2 および 3 を示して本発明を具体的に説明する。

## 【0051】

しかしながら、これら実施例は単に例示であって、本発明を限定するものではない。本発明の範囲内で種々の変形および修正が可能であることは言うまでもない。

## 【0052】

参考例 1

N-(ターシャリーブトキシカルボニル)-4, 5-オーベンジリデン-3-ヒドロキシ-3-デカルボキシシアスタチンB (化合物IIa)の製造

「Carbohydrate Research」第286巻、173~178頁(1996)に記載の佐藤らの方法によって製造されるN-(ターシャリーブトキシカルボニル)-4, 5-ベンジリデンシアスタチンB (5.60g, 13.8mmol) をN, N-ジメチルホルムアミド (DMF) (10 ml) に溶解し、その溶液にN, N-ジイソプロピルエチルアミン (4.80ml, 27.6mmol) および塩化2-メトキシエトキシメチル (3.15ml, 27.6mmol) を加えた。得られた混合物を室温で12時間攪拌した。

## 【0053】

反応溶液を減圧濃縮した後、残留物に酢酸エチルを加え、飽和食塩水にて2回洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、ろ過した。ろ液を減圧濃縮した後、残留物を展開溶媒としてクロロホルム-メタノール (19:1) を用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、無色泡状のN-(ターシャリーブトキシカルボニル)-4, 5-オーベンジリデンシアスタチンBメトキシエトキシメチルエステル6.65g (98%); 比旋光度、 $[\alpha]_D^{28} +22.1^\circ$  (c 0.91, メタノール) を得た。

## 【0054】

本化合物 (6.50g, 13.1mmol) をテトラヒドロフラン (100ml) と2, 2, 2-トリフルオロエタノール (10ml) の混合溶媒に溶解し、これに水素化ホウ素ナトリウム (995mg, 26.3mmol) を加えた。得られた混合物を室温で1時間攪拌して還元反応を行った。その後、反応溶液に水 (30ml) を加えて反応を停止させ、さらに室温で30分間攪拌した。得られた反応溶液を減圧濃縮した後、残留物に水を加えクロロホルムで2回抽出した。有機層を合わせ、無水硫酸マグネシウムで乾燥

した後、ろ過した。ろ液を減圧濃縮した後、残留物を展開溶媒としてクロロホルム-メタノール (19:1) を用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、無色泡状の表題化合物 (化合物IIa) 4.87g (94%) を得た。

【0055】

比旋光度:  $[\alpha]_D^{27} +87.3^\circ$  (c 0.93, メタノール)

$^1\text{H-NMR}$  スペクトル ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.47 (9 H, s,  $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.99 (3 H, s,  $-\text{NHCOCH}_3$ ), 2.17 (1 H, t,  $J=5.4\text{Hz}$ ,  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ), 2.18~2.30 (1 H, m, 5-H), 3.31 (1 H, br t,  $J=12.5\text{Hz}$ , 6-Hax), 3.51 (1 H, dd,  $J=12.5, 4.2\text{Hz}$ , 6-Heq), 3.72~3.87 (2 H, m,  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ), 4.59 (1 H, dd,  $J=7.6, 2.2\text{Hz}$ , 3-H), 4.63~4.73 (1 H, m, 4-H), 5.73 (1 H, s,  $=\text{CHPh}$ ), 5.89 (2 H, brs, 2-H and  $-\text{NHCOCH}_3$ ), 7.34~7.44 (5 H, m, Ph)

IR スペクトル ( $\text{CHCl}_3$ ): 3450, 3000, 1680, 1390, 1370, 1170, 1090,  $1070\text{cm}^{-1}$

マスペクトル (FAB-MS):  $m/z$  393.3 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ), 337.3, 234.2, 154.1, 136.1, 57.1

【0056】

次に第四の本発明方法の実施例を示す。

【0057】

#### 実施例 1

(1) N-(ターシャリーブトキシカルボニル)-4, 5- $\text{O}$ -ベンジリデン-6-N-デアセチル-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンB (化合物IIIa) の製造

参考例1の製造法で得られた化合物IIa (3.0g, 7.64mmol) をヒドラジン水和物 ( $\text{H}_2\text{NNH}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ , 30ml) に溶解し、 $70^\circ\text{C}$  で7日間攪拌した。反応溶液を室温まで冷却した後、反応溶液を減圧濃縮した。残留物に水を加えクロロホルムで3回抽出した。有機層を合わせ、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、ろ過した。ろ液を減圧濃縮した後、残留物を展開溶媒として酢酸エチル-メタノール



(19:1) を用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、無色泡状の表題化合物 (化合物 IIIa) 1.07g (40%) を得た。またこのとき、未反応の化合物 IIa を 1.56g (52%) 回収した。

【0058】

比旋光度:  $[\alpha]_D^{28} +25.7^\circ$  (c 0.81, メタノール)

$^1\text{H-NMR}$  スペクトル ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.49 (9 H, s,  $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$ ), 2.54~2.64 (1 H, m, 5-H), 3.36 (1 H, br t,  $J=12.5\text{Hz}$ , 6-Hax), 3.48 (1 H, dd,  $J=12.2, 5.4\text{Hz}$ , 6-Heq), 3.79 (1 H, d,  $J=5.9\text{Hz}$ ,  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ), 4.36 (1 H, dd,  $J=8.1, 1.7\text{Hz}$ , 3-H), 4.62 (1 H, dd,  $J=8.1, 2.7\text{Hz}$ , 4-H), 5.27 (1 H, br s, 2-H), 5.74 (1 H, s,  $\text{CHPh}$ ), 7.26~7.46 (5 H, m, Ph)

IR スペクトル ( $\text{CHCl}_3$ ): 3400, 2970, 1685, 1460, 1410, 1370, 1170, 1090,  $1070\text{cm}^{-1}$

マスペクトル (FAB-MS):  $m/z$  351.2 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ), 334.2, 234.2, 154.1, 136.1, 57.1

【0059】

(2) N-(ターシャリーブトキシカルボニル)-4, 5-オーベンジリデン-6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチン B (化合物 IVa) の製造

実施例 1, (1) で得られた化合物 IIIa (3.0g, 8.56mmol) を N, N-ジメチルホルムアミド (30ml) に溶解し、これに N, N-ジイソプロピルエチルアミン (14.8ml, 85.6mmol) およびトリフルオロ酢酸エチル (10.2ml, 85.6mmol) を加えた。得られた混合物を  $60^\circ\text{C}$  で 15 時間攪拌した。

反応溶液を減圧濃縮した後、残留物に酢酸エチルを加え、飽和食塩水で 2 回洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、ろ過した。ろ液を減圧濃縮した後、残留物を展開溶媒として n-ヘキサノール-酢酸エチル (1:1) を用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、無色泡状の表題化合物 (化合物 IVa) 2.77g (73%) を得た。

【0060】

比旋光度:  $[\alpha]^{28}_{\text{D}} +67.7^{\circ}$  (c 0.96, メタノール)

$^1\text{H}$ -NMRスペクトル ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.47 (9 H, s,  $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.95 (1 H, t,  $J=5.4\text{Hz}$ ,  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ), 2.12~2.23 (1 H, m, 5-H), 3.31 (1 H, br t,  $J=12.5\text{Hz}$ , 6-H<sub>ax</sub>), 3.59 (1 H, dd,  $J=12.2, 3.9\text{Hz}$ , 6-H<sub>eq</sub>), 3.77~3.90 (2 H, m,  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ), 4.62~4.73 (2 H, m, 3-H and 4-H), 5.76 (1 H, s,  $=\text{CHPh}$ ), 5.94 (1 H, brs, 2-H), 6.65 (1 H, br s,  $-\text{NHCOCF}_3$ ), 7.36~7.46 (5 H, m, Ph)

IRスペクトル ( $\text{CHCl}_3$ ): 3440, 2980, 1740, 1705, 1395, 1370, 1165, 1090, 1070 $\text{cm}^{-1}$

マスペクトル (FAB-MS):  $m/z$  447.2 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ), 391.1, 234.2, 154.1, 128.1, 57.1

【0061】

(3) 式 (I) の 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチンBの塩酸塩の製造

(i) 実施例 1, (2) で得られた化合物 IVa (2.50g, 5.60mmol) をメタノール (200ml) に溶解し、これに10%パラジウム炭素 (1.25g) を加えて、水素雰囲気下、室温で16時間攪拌してベンジリデン基の脱離反応を行った。10%パラジウム炭素をセライトろ過して除いた後、ろ液を減圧濃縮した。残留物を展開溶媒としてクロロホルム-メタノール (19:1) を用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、無色泡状のN-(ターシャリーブトキシカルボニル)-6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチンB (化合物 XIa) 1.85g (92%) を得た。

【0062】

化合物 XIaの理化学的性状

比旋光度:  $[\alpha]^{28}_{\text{D}} +45.7^{\circ}$  (c 0.59, メタノール)

$^1\text{H}$ -NMRスペクトル ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.48 (9 H, s,  $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.87~1.96 (1 H, m, 5-H), 2.43 (1 H, t,  $J=$

5.4 Hz,  $-\text{CH}_2\text{CH}$ ), 3.21 (1 H, d,  $J=3.4$  Hz,  $=\text{C}_4-\text{OH}$ ), 3.29 (1 H, m,  $=\text{C}_3-\text{OH}$ ), 3.49 (1 H, dd,  $J=14.2, 8.8$  Hz, 6-Hax), 3.60 (1 H, dd,  $J=14.2, 4.4$  Hz, 6-Heq), 3.77 ~ 3.90 (3 H, m,  $-\text{CH}_2\text{OH}$  and 3-H), 4.29 (1 H, dd,  $J=6.8, 3.4$  Hz, 4-H), 5.55 (1 H, br t,  $J=8.3$  Hz, 2-H)

IR スペクトル ( $\text{CHCl}_3$ ) : 3375, 2980, 1730, 1685, 1540, 1410, 1370, 1250,  $1170\text{cm}^{-1}$

マスペクトル (FAB-MS) :  $m/z$  359.2 ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup>, 307.2, 303.2, 289.2, 154.1, 138.1, 107.1, 57.1

#### 【0063】

(ii) こうして得られた化合物 XIa (70mg, 0.195mmol) をジクロロメタン (1 ml) に溶解し、これに 4 N 塩酸-ジオキサン溶液 (0.25ml) を加え室温で 30 分間攪拌した。N-tert-ブトキシカルボニル基が脱離された。無色固体が析出して懸濁した反応溶液にジエチルエーテルを加えてよく攪拌した後、析出した無色固体を遠心分離によって沈降させ、上澄みを除いた。得られた沈殿を減圧乾燥させ、無色固体の表題化合物〔式 (I) の化合物〕 41mg (80%) を得た。

#### 【0064】

次に第五の本発明方法の実施例を示す。

#### 【0065】

#### 実施例 2

(1) N-(ターシャリーブトキシカルボニル)-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチルシアスタチン B (化合物 VIa) の製造

参考例 1 の製造法で得られた化合物 IIa (1.20g, 3.06mmol) をメタノール (120 ml) に溶解し、これに 10% パラジウム炭素 (500mg) を加え水素雰囲気下、室温で 6 時間攪拌してベンジリデン基の脱離反応を行った。10% パラジウム炭素をセライトろ過して除いた後、ろ液を減圧濃縮した。残留物を展開溶媒としてクロロホルム-メタノール (3 : 2) を用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、無色泡状の表題化合物 (化合物 VIa) 877mg (94%) を得た。

## 【0066】

比旋光度:  $[\alpha]_D^{25} +50.5^\circ$  (c 0.49, メタノール)

mp 201~202° (decomp.) 無色針状晶 EtOH-Et<sub>2</sub>O

<sup>1</sup>H-NMR スペクトル (CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 1.45 (9H, s, COOC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.91~1.98 (1H, m, 5-H), 1.96 (3H, s, -NHCOCH<sub>3</sub>), 3.10 (1H, dd, J=14.2, 3.4 Hz, 6-H<sub>ax</sub>), 3.71 (1H, dd, J=5.4, 2.4 Hz, 3-H), 3.73 (1H, dd, J=11.2, 8.1 Hz, -CH<sub>2</sub>OH), 3.80 (1H, dd, J=11.2, 3.9 Hz, -CH<sub>2</sub>OH), 3.99 (1H, dd, J=5.4, 3.2 Hz, 4-H), 4.14 (1H, d, with a small coupling, J=14.2 Hz, 6-H<sub>eq</sub>), 5.99 (1H, d, J=2.4 Hz, 2-H)

IR スペクトル (KBr): 3290, 2980, 2920, 1710, 1670, 1650, 1540, 1430, 1270, 1160, 1100, 1010, 960 cm<sup>-1</sup>

マスペクトル (FAB-MS): m/z 305.3 (M+H)<sup>+</sup>, 289.2, 249.2, 154.1, 146.2, 136.1, 107.1, 57.1

## 【0067】

(2) N-(ターシャリーブトキシカルボニル)-5-O-(ターシャリーブチルジメチルシリル)-3-(ターシャリーブチルジメチルシリルオキシ)メチル-3-デカルボキシシアスタチンB (化合物VIIa) の製造

前項(1)で得られた化合物 VIa (2.20g, 7.23mmol) を N, N-ジメチルホルムアミド (DMF) (30ml) に溶解し、この溶液にイミダゾール (3.44g, 50.6mmol) およびターシャリーブチルジメチルシリルクロライド (3.81g, 25.3mmol) を加え、室温にて16時間攪拌した。反応溶液を減圧濃縮した後、残留物に酢酸エチルを加え、飽和食塩水で2回洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、ろ過した。ろ液を減圧濃縮した後、残留物を展開溶媒とし n-ヘキサン-酢酸エチルを用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、無色油状の表題化合物 (化合物VIIa) 1.89g (49%) を得た。

## 【0068】

比旋光度:  $[\alpha]_D^{23} +37.3^\circ$  (c 1.03, メタノール)

<sup>1</sup>H-NMR スペクトル (CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 0.05, 0.10 and 0.14 (6H,

3H and 3H, each s,  $(\text{CH}_3)_2$  of t-butyldimethylsilyl), 0.89 and 0.94

(each 9H, each s,  $(\text{CH}_3)_3$  of t-butyldimethylsilyl), 1.46 (9 H, s,  $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.73~1.82 (1 H, m, 5-H), 2.04 (1 H, s,  $\text{NHCOCH}_3$ ), 2.76 (1 H, d,  $J=6.8\text{Hz}$ , -OH), 3.28~3.37 (1 H, m, 6-Hax), 3.52~3.63 (4 H, m,  $-\text{CH}_2\text{OTBDMS}$ , 3-H and 6-H), 4.14 (1 H, br t,  $J=2.9\text{Hz}$ , 4-H), 5.58 (1 H, br t,  $J=8.1\text{Hz}$ , 2-H), 7.40 (1 H, br s, -NH)

IRスペクトル ( $\text{CHCl}_3$ ) : 3400, 2950, 2930, 2860, 1680, 1500, 1470, 1410, 1380, 1260, 1160, 1100,  $840\text{cm}^{-1}$

マスペクトル (FAB-MS) :  $m/z$  533.3 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ), 474.3, 374.3, 316.2, 242.2, 171.2, 73.1, 57.1

【0069】

(3) N-(ターシャリーブトキシカルボニル)-5-O-(ターシャリーブチルジメチルシリル)-3-(ターシャリーブチルジメチルシリルオキシ)メチル-3-デカルボキシー-4-ケトシアスタチンB (化合物VIIIa)の製造

前項(2)で得られた化合物VIIa (640mg, 1.20mmol)を無水ジクロロメタン (30ml)に溶解し、その溶液に対して、文献記載の方法 (J. Am. Chem. Soc. 1991, 113, 7277~7287; J. Org. Chem. 1993, 58, 2899)に従って調製したデスマーチン酸化試薬 (764mg, 1.80mmol)を加え室温にて2時間攪拌した。反応溶液をクロロホルムで希釈し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で中和後分液した。有機層を水洗後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、ろ過した。ろ液を減圧濃縮後、残留物を展開溶媒としてn-ヘキサン-酢酸エチル (3:1)を用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、無色泡状の表題化合物 (化合物VIIIa)-628mg-(98%)を得た。

【0070】

比旋光度 :  $[\alpha]_D^{28} +45.0^\circ$  (c 0.84, メタノール)

$^1\text{H}$ -NMRスペクトル ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm) : 0.06, 0.07 and 0.10 (6H, 3H, and 3H, each s,  $(\text{CH}_3)_2$  of t-butyldimethylsilyl), 0.88 and 0.89

(each 9H, each s,  $(\text{CH}_3)_3$  of t-butyldimethylsilyl), 1.47 (9H, s,  $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.98 (3H, s,  $\text{NHCOCH}_3$ ), 2.53~2.62 (1H, m, 5-H), 3.62 (1H, br t,  $J = 9.8\text{Hz}$ , 6-H<sub>ax</sub>), 3.97 (2H, dd,  $J = 10.3, 4.4\text{Hz}$ , 6-Heq and  $-\text{CH}_2\text{OTBDMS}$ ), 4.08 (1H, dd,  $J = 13.7, 4.9\text{Hz}$ ,  $-\text{CH}_2\text{OTBDMS}$ ), 4.73 (1H, br s with a small coupling, 3-H), 5.14 (1H, br s, 2-H), 6.31 (1H, br s, -NH)

IRスペクトル ( $\text{CDCl}_3$ ): 3430, 2950, 2930, 2860, 1740, 1680, 1480, 1410, 1260, 1160, 1100,  $840\text{cm}^{-1}$

マスペクトル (FAB-MS):  $m/z$  531.4 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>, 472.3, 416.3, 372.3, 358.2, 314.3, 186.2, 73.1, 57.1

#### 【0071】

(4) N-(ターシャリーブトキシカルボニル)-5-O-(ターシャリーブチルジメチルシリル)-3-(ターシャリーブチルジメチルシリルオキシ)メチル-3-デカルボキシ-4-エピシアスタチンB (化合物IXa)の製造

前項(3)で得られた化合物 VIIIa (106mg, 0.20mmol) を無水アセトニトリル (5ml) に溶解し、その溶液に $-50^\circ\text{C}$ にて水素化ホウ素リチウム (8.7mg, 0.40mmol) を加え30分間攪拌した。反応溶液に飽和塩化アンモニウム水溶液を加えて反応を停止させた後、クロロホルム20mlで希釈し分液した。有機層を水洗した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、ろ過した。ろ液を減圧濃縮した後、残留物を展開溶媒としてn-ヘキサン-酸エチル (5:3) を用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して、無色泡状の表題化合物 (IXa) 79mg (74%) を得た。

#### 【0072】

比旋光度:  $[\alpha]_D^{26} +24.2^\circ$  (c 0.73, メタノール)

$^1\text{H}$ -NMRスペクトル ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ -ppm): 0.05, 0.06, 0.10 and 0.14

(each 3H, each s,  $(\text{CH}_3)_2$  of t-butyldimethylsilyl), 0.89 (18H, s,  $(\text{CH}_3)_3$  of t-butyldimethylsilyl), 1.47 (9H, s,  $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.78~1.87 (1H, m, 5-H), 1.97 (3H, s,  $-\text{NHCOCH}_3$ ), 2.22 (1H, d,  $J = 2.4\text{Hz}$ , -OH), 3.41 (1H, br d,  $J = 13.2\text{Hz}$ ,

6-H), 3.58~3.69 (1 H, m, 6-H), 3.61 (1 H, dd,  $J=10.3, 5.4$  Hz,  $-\text{CH}_2\text{OTBS}$ ), 3.69 (1 H, br t,  $J=4.2$  Hz, 3-H), 3.75 (2 H, br dd,  $J=10.3, 8.3$  Hz,  $-\text{CH}_2\text{OTBS}$  and 4-H), 5.74 (1 H, br s, 2-H), 7.07 (1 H, d,  $J=8.3$  Hz, -NH)

IR スペクトル ( $\text{CHCl}_3$ ): 3400, 2960, 2940, 2860, 1680, 1510, 1470, 1370, 1260, 1100,  $840\text{cm}^{-1}$

マスペクトル (FAB-MS):  $m/z$  533.5 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ), 477.4, 374.3, 316.3, 186.2, 73.1, 57.1

【0073】

(5) 式 (V) の 3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチルシアスタチン B の塩酸塩の製造

前項 (4) で得られた化合物 IXa (20mg, 0.0375mmol) を無水ジオキサン (1ml) に溶解し、これに 4 N 塩酸-ジオキサン溶液 (0.2ml) を加え室温で 2 時間攪拌した。無色固体が析出して懸濁した反応溶液にジエチルエーテルを加えてよく攪拌した後、析出した無色固体を遠心分離によって沈殿させ上澄みを除いた。得られた沈殿を減圧乾燥させ、無色固体の表題化合物 [式 (V) の化合物] 7.2mg (80%) を得た。

【0074】

次に第六の本発明方法の実施例を示す。

【0075】

実施例 3

(1) N-(ターシャリーブトキシカルボニル)-5-O-(ターシャリーブチルジメチルシリル)-3-(ターシャリーブチルジメチルシリルオキシ)メチル-6-デアセタミド-3-デカルボキシ-6-トリフルオロアセタミドシアスタチン B (化合物 XIa) の製造

実施例 1、(3) (i) において、中間体化合物として得られた化合物 XIa すなわち N-(ターシャリーブトキシカルボニル)-6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチン B (1.30g, 3.63mmol) を N, N-ジメチルホルムアミド (DMF) (25ml) に溶解

した。その溶液にイミダゾール(1.73g, 25.4mmol) およびターシャリーブチルジメチルシリルクロライド(1.91g, 12.7mmol) を加え、室温にて16時間攪拌した(〇ーシリル化反応)。反応溶液を減圧濃縮した後、残留物に酢酸エチルを加え飽和食塩水で2回洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、ろ過した。ろ液を減圧濃縮した後、残留物を展開溶媒としてn-ヘキサン-酢酸エチル(9:1)を用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、無色針状結晶の表題化合物(化合物XIIa) 1.23g (58%)を得た。

## 【0076】

比旋光度:  $[\alpha]_D^{28} +42.5^\circ$  (c 0.96, メタノール)

融点: 88~90°C

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 0.06, 0.11 and 0.12 (6 H, 3 H and 3 H, each s,  $(\text{CH}_3)_2$  of t-butyldimethylsilyl), 0.89 and 0.90 (each 9H, each s,  $(\text{CH}_3)_3$  of t-butyldimethylsilyl), 1.47 (9 H, s,  $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$ , 1.83~1.93 (1 H, m, 5-H), 2.69 (1 H, br s, -OH), 3.20 (1 H, br t,  $J=13.7\text{Hz}$ , 6- $\text{H}_{\text{ax}}$ ), 3.63 (1 H, dd,  $J=10.3, 7.8\text{Hz}$ , - $\text{CH}_2\text{TBDMS}$ ), 3.69 (1 H, dd,  $J=13.7, 3.9\text{Hz}$ , 6- $\text{Heq}$ ), 3.75~3.82 (2 H, m, - $\text{CH}_2\text{TBDMS}$  and 3-H), 3.98 (1 H, br d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 4-H), 5.47 (1 H, br t,  $J=8.8\text{Hz}$ , 2-H)

IRスペクトル ( $\text{CHCl}_3$ ): 3560, 3350, 2950, 2930, 2860, 1730, 1680, 1530, 1460, 1410, 1370, 1250, 1160, 1090, 950, 840 $\text{cm}^{-1}$

マスペクトル (FAB-MS):  $m/z$  587.4 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ), 531.4, 487.4, 473.3, 374.4, 316.3, 242.3, 186.2, 73.1, 57.1

## 【0077】

(2) N-(ターシャリーブトキシカルボニル)-5-〇-(ターシャリーブチルジメチルシリル)-3-(ターシャリーブチルジメチルシリルオキシ)メチル-6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-ケトシアスタチンB (化合物XIIIa)の製造

前項(1)で得られた化合物 XIIa (190mg, 0.324mmol) を無水ジクロロメタン (10ml) に溶解した。この溶液にデス-マーチン酸化試薬 (275mg, 0.648mmol)



を加え室温にて1時間攪拌した(4位水酸基の酸化反応)。反応溶液をクロロホルムで希釈し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で中和後に分液した。有機層を水洗後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、ろ過した。ろ液を減圧濃縮後、残留物を展開溶媒としてn-ヘキサン-酢酸エチル(7:1)を用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、無色針状結晶の表題化合物(化合物XIIIa) 183mg (97%)を得た。

## 【0078】

比旋光度:  $[\alpha]_D^{27} +23.3^\circ$  (c 0.70, メタノール)

融点: 165 ~ 167 °C

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 0.03, 0.06 and 0.12 (3 H, 6 H and 3 H, each s,  $(\text{CH}_3)_2$  of t-butyl dimethylsilyl), 0.89 (18 H, s,  $(\text{CH}_3)_3$  of t-butyl dimethylsilyl), 1.47 (9 H, s,  $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$ ), 2.55~2.63 (1 H, m, 5-H), 3.63 (1 H, dd,  $J=10.3, 9.3\text{ Hz}$ , 6-Hax), 3.99 (2 H, dd,  $J=10.3, 3.9\text{ Hz}$ ,  $-\text{CH}_2\text{OTBDMS}$  and 6-Heq), 4.11 (1 H, dd,  $J=14.2, 4.9\text{ Hz}$ ,  $-\text{CH}_2\text{OTBDMS}$ ), 4.74 (1 H, d,  $J=7.8\text{ Hz}$ , 3-H), 5.17 (1 H, br t,  $J=7.1\text{ Hz}$ , 2-H), 7.30 (1 H, br s, -NH)

IRスペクトル( $\text{CHCl}_3$ ): 3420, 2950, 2930, 2860, 1730, 1700, 1470, 1390, 1260, 1170, 1000,  $840\text{ cm}^{-1}$

マスペクトル(FAB-MS):  $m/z$  585.5 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ), 529.4, 471.4, 414.4, 372.4, 358.3, 314.3, 284.3, 226.2, 154.2, 73.1, 57.1

## 【0079】

(3) N-(ターシャリーブトキシカルボニル)-5-O-(ターシャリーブチルジメチルシリル)-3-(ターシャリーブチルジメチルシリルオキシ)メチル-6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-エピ-6-トリフロロアセタミドシアシタチンB (化合物XIVa) の製造

前項(2)で得られた化合物 XIIIa (110mg, 0.188mmol) を無水アセトニトリル(3ml)に溶解し、その溶液へ-50°Cにて水素化ホウ素リチウム(8.2mg, 0.376mmol)を加え、1時間攪拌した(4-ケト基の還元反応)。反応溶液に飽和

塩化アンモニウム水溶液を加え反応を停止させた後、クロロホルム30mlで希釈し  
分液した。有機層を水洗した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、ろ過した。ろ  
液を減圧濃縮した後、残留物を展開溶媒としてn-ヘキサン-酢酸エチル

(10:1)を用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、無色泡状の  
表題化合物(化合物XIVa) 96.9mg (88%)を得た。

【0080】

比旋光度:  $[\alpha]_D^{25} +20.0^\circ$  (c 1.02, メタノール)

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 0.04, 0.06, 0.10 and 0.14  
(each 3H, each s,  $(\text{CH}_3)_2$  of t-butylidimethylsilyl), 0.896 and  
0.899 (each 9H, each s,  $(\text{CH}_3)_3$  of t-butylidimethylsilyl), 1.47  
(9H, s,  $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.83~1.93 (1H, m, 5-H), 2.25  
(1H, d,  $J=2.9\text{Hz}$ , -OH), 3.31 (1H, br d,  $J=11.7\text{Hz}$ , 6-H),  
3.59 (1H, dd,  $J=10.0, 5.1\text{Hz}$ ,  $-\text{CH}_2\text{OTBDMS}$ ), 3.70~3.81 (4H,  
m,  $-\text{CH}_2\text{OTBDMS}$ , 3-H, 4-H and 6-H), 5.88 (1H, br s,  
2-H), 8.11 (1H, d,  $J=7.3\text{Hz}$ , -NH)

IRスペクトル ( $\text{CHCl}_3$ ): 3370, 2960, 2940, 2870, 1740, 1690, 1540,  
1480, 1370, 1260, 1160, 1100, 840  $\text{cm}^{-1}$

マスペクトル (FAB-MS):  $m/z$  587.5 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ), 531.5, 487.4,  
473.3, 374.4, 316.3, 242.3, 155.2, 73.1, 57.1

【0081】

(4) 式(X)の6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロ  
キシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチンBの製造

前項(3)で得られた化合物 XIVa(40mg, 0.0682mmol)を無水ジオキサン

(2ml)に溶解し、その溶液に4N塩酸-ジオキサン溶液(0.4ml)を加え室温  
で5時間攪拌した。この反応溶液にさらに4N塩酸-ジオキサン溶液(0.6ml)を  
加え室温で14時間攪拌した(イミノ保護基とヒドロキシル保護基の脱離反応)。  
無色固体が析出して懸濁した反応溶液にジエチルエーテルを加えてよく攪拌した  
後、析出した無色固体を遠心分離によって沈殿させ、上澄みを除いた。得られた  
沈澱を減圧乾燥させ、無色固体の表題化合物、すなわち式(X)の化合物18.2mg

(91%) を得た。

【0082】

比旋光度:  $[\alpha]_D^{26} +35.0^\circ$  (c 0.50, メタノール)

$^1\text{H}$ -NMR スペクトル ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $40^\circ\text{C}$ ,  $\delta$  ppm): 1.88~2.00 (1 H, m, 5-H), 3.11 (1 H, br t,  $J=13.2\text{Hz}$ , 6-H<sub>ax</sub>), 3.42 (1 H, dd,  $J=13.2$ , 4.4 Hz, 6-H<sub>eq</sub>), 3.51 (1 H, dd,  $J=10.3$ , 9.3 Hz, 4-H), 3.67 (1 H, dd,  $J=11.2$ , 6.4 Hz,  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ), 3.73 (1 H, dd,  $J=10.3$ , 8.8 Hz, 3-H), 3.84 (1 H, dd,  $J=11.2$ , 3.9 Hz,  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ), 4.84 (1 H, d,  $J=9.8\text{Hz}$ , 2-H)

IR スペクトル (KBr): 3350, 1740, 1570, 1420, 1230, 1180, 1100, 1060, 990, 880  $\text{cm}^{-1}$

マススペクトル (FAB-MS):  $m/z$  259.1 ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup>, 202.2, 154.1, 146.1, 136.1, 128.1, 107, 77.1, 57.1

【書類名】 要約書

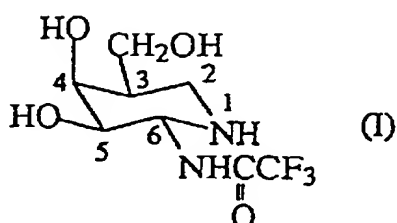
【要約】

【課題】

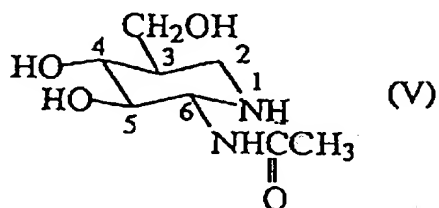
本課題はグリコシダーゼに強い阻害活性を示す新規なシアスタチン B 誘導体を提供することであり、またそのようなシアスタチン B 誘導体の製造方法を提供することにある。

【解決手段】

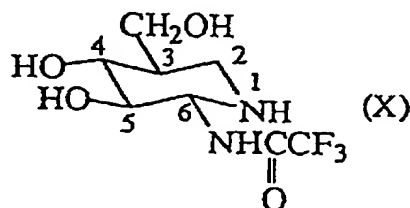
式 (1)



の 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチン B と、式 (V)



の 3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシシアスタチン B と、式 (X)



の 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフロロアセタミドシアスタチン B が合成された。

式 (I) の化合物、式 (V) の化合物および式 (X) の化合物は、グリコシダーゼの一種である N-アセチルガラクトサミニダーゼ、ガラクトシダーゼ、グルコシダーゼおよびマンノシダーゼに対して強い酵素阻害活性を有する。

認定・付加情報

特許出願の番号	平成10年 特許願 第370277号
受付番号	59800849724
書類名	特許願
担当官	林本 光世 2305
作成日	平成11年 3月16日

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】

【識別番号】	000173913
【住所又は居所】	東京都品川区上大崎3丁目14番23号
【氏名又は名称】	財団法人微生物化学研究会

【特許出願人】

【識別番号】	000006091
【住所又は居所】	東京都中央区京橋2丁目4番16号
【氏名又は名称】	明治製菓株式会社

【代理人】

申請人

【識別番号】	100066452
【住所又は居所】	東京都港区西新橋1丁目1番15号 物産ビル別館 八木田・浜野・森田特許事務所
【氏名又は名称】	八木田 茂

【選任した代理人】

【識別番号】	100064388
【住所又は居所】	東京都港区西新橋1丁目1番15号 物産ビル別館 八木田・浜野・森田特許事務所
【氏名又は名称】	浜野 孝雄

【選任した代理人】

【識別番号】	100067965
【住所又は居所】	東京都港区西新橋1丁目1番15号 物産ビル別館 八木田・浜野・森田特許事務所
【氏名又は名称】	森田 哲二

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000173913]

1. 変更年月日 1990年 8月10日  
[変更理由] 新規登録  
住 所 東京都品川区上大崎3丁目14番23号  
氏 名 財団法人微生物化学研究会

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000006091]

1. 変更年月日 1990年 8月 3日  
[変更理由] 新規登録  
住 所 東京都中央区京橋2丁目4番16号  
氏 名 明治製菓株式会社

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**